Aus der Frauenklinik und Poliklinik
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr.med. K.-H. Wulf

ERMITTLUNG EINES ZEITPROFILS VON I.V. APPLIZIERTEM PMT IN TUBENGEWEBE

Inaugural-Dissertation
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Matthias Albani
aus Nürnberg

Würzburg, den 25. April 1980

Aus der Frauenklinik und Poliklinik
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr.med. K.-H. Wulf

ERMITTLUNG EINES ZEITPROFILS VON I.V. APPLIZIERTEM PMT IN TUBENGEWEBE

Inaugural-Dissertation
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Matthias Albani
aus Nürnberg

Würzburg, den 25. April 1980

Referent:	Priv.Doz. Dr.med. V. Lehmann
Korreferent:	Professor Dr.med. K.-H. Wulf
Dekan:	Professor Dr.med. K.-H. Wulf

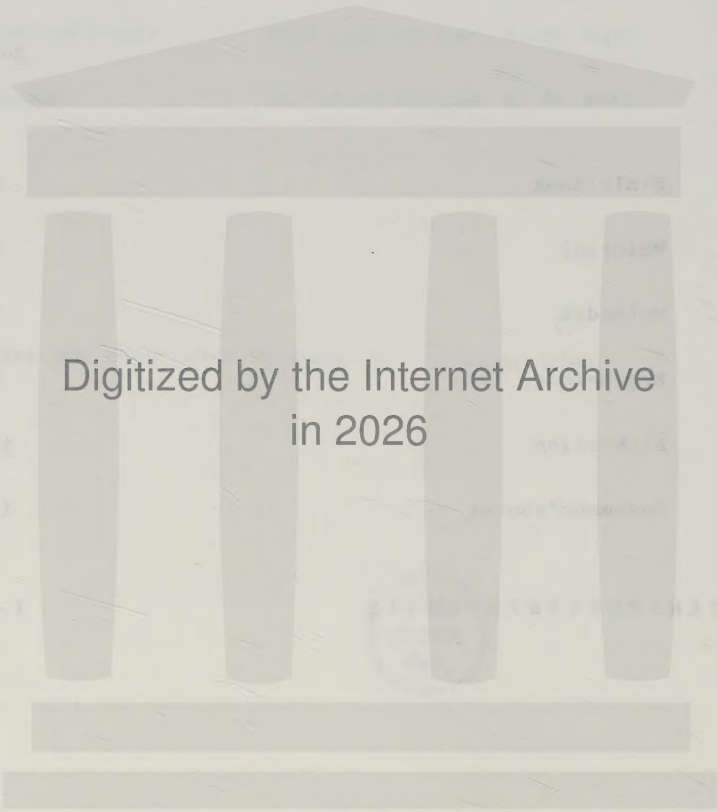
Tag der mündlichen Prüfung: 15. Dezember 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Material	3
III.	Methodik	4
IV.	Ergebnisse	6
V.	Diskussion	10
VI.	Zusammenfassung	13
L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S		I - II



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543527_0099

I. EINLEITUNG

Pyrrolidino-methyl-Tetrazyclin ist ein seit 1958 (15) in vielen klinischen Disziplinen verwendetes Breitbandantibiotikum. Sein Wert liegt in der guten Verträglichkeit (2,63 % Nebenwirkungen, meist gastrointestinale Störungen (3)) und seiner Wirksamkeit gegen eine Vielzahl von grampositiven und gramnegativen Bakterien, Spirochäten, Mykobakterien, Chlamydien, Mykoplasmen und Rickettsien, einschließlich solcher Erreger, die im Test als wenig oder nicht tetrazyclinempfindlich beschrieben werden (1, 3). Aus diesen Eigenschaften ergibt sich eine besondere Indikation zur Therapie akuter Infekte der Adnexe, da drohende irreversible Schäden mit konsekutivem Tubenverschluß hier eine sofortige antibiotische Therapie erforderlich machen, eine Materialgewinnung zur Bestimmung der Keime aus anatomischen Gegebenheiten meistens nicht möglich ist, es sich aber andererseits um die verschiedensten Keime handeln kann. Erfahrungsgemäß sind die häufigsten Erreger der akuten Adnexitis Enterokokken, Gonokokken, Mykoplasmen, Streptokokkus anaerobius, sowie die ebenfalls anaeroben, sporenlosen Stäbchen der Gruppe Bacteroides, oft in Form einer Mischflora (2, 15). Hinzu kommt, daß sich durch die i.v. Applikationsmöglichkeit von PMT hohe Serumspiegel erzeugen lassen, die nach Knothe, Ritzerfeld und Bucher sogar eine gewisse bakterizide Wirkung haben. Offen bleibt hierbei die Frage, ob so hohe Wirkspiegel nur im intravasalen Raum erzielt werden, oder ob auch am eigentlichen Ort der Entzündungsvorgänge, also im Gewebe, eine genügend hohe und genügend lang anhaltende Konzentration erreicht wird.

Seit man den Wert von Gewebsspiegelbestimmungen erkannt hat und durch die geeigneten Versuchsanordnungen in der Lage ist, Antibiotikaspiegel zu messen, hat man zunächst im Tierversuch (11), später im menschlichen Lungengewebe (14), Appendix (17) und anderem entsprechende Untersuchungen mit PMT vorgenommen. Auch Uterus und Adnexe waren bereits Thema einer Studie (8), bei der die Gewebsproben aus dem Uterus in zwei Gruppen, nämlich 2 - 3 Stunden und 4 - 5 Stunden zwischen Injektion und Unterbrechung der Blutzufuhr eingeteilt wurden. Die Proben aus den Tuben wurden zeitlich nicht unterteilt. Es fehlt damit bisher, gerade für den so wichtigen therapeutischen Bereich der Adnexe, ein Verlauf des Gewebsspiegels von PMT in Abhängigkeit von der Zeit. Nur so kann man aber eine Aussage über Konzentrationsmaxima und über die Dauer wirksamer Konzentrationen nach Applikation machen.

Von der Herstellerfirma des von uns verwendeten PMT-Präparates (Reverin^{R}) wird die Gabe von 275 mg des angegebenen Tetrazyclins pro 24 Stunden empfohlen. Es stellt sich die Frage, ob bei einer einmaligen Verabreichung auch noch nach 24 Stunden ein therapeutisch ausreichend wirksamer Plasma- und Gewebespiegel in der Tube nachweisbar ist.

II. MATERIAL

Die Untersuchungen wurden an Blutseren und Tuben von 35 Patientinnen durchgeführt. Die Tuben waren 5 Minuten bis 24 Stunden nach der Gabe von Reverin^{R} exstirpiert worden. Bis zum Zeitpunkt von 12 Stunden nach der Reverinapplizierung wurden nur durch Laparatomie gewonnene Tuben verwandt. Nach 12 Stunden kamen auch Tuben zur Verwendung, die bei vaginalen Operationen abgesetzt worden waren. Bei der abdominalen Exstirpation ist es möglich, die Gefäßzufuhr (A. uterina und A. ovarica) gleichzeitig zu unterbrechen. Bei der vaginalen Operationsmethode liegen zwischen dem Absetzen der A. uterina und der A. ovarica 5 - 8 Minuten. In diesem Zeitraum ist die Durchblutung des isthmischen Tubenabschnittes bereits verändert. Bei den 12 - 24 Stunden-Werten kann diese Zeitspanne aber vernachlässigt werden.

Die Patientinnen waren im Alter zwischen 30 und 71 Jahren (Mittelwert: 47,2 Jahre) und hatten ein Körpergewicht von 54 - 108 kg (mittleres Gewicht: 68,5 kg). Von diesen Patientinnen hatten drei ein Körpergewicht von 90, 100 bzw. 108 kg.

III. METHODIK

Die Patientinnen erhielten 275 mg PMT (Reverin^{R}) in 10 ml Aqua dest. gelöst intravenös appliziert. Vor der Gabe von PMT wurde Blut zur Leerwertbestimmung abgenommen. Bei einem Durchschnittsgewicht von 68,5 kg entsprechen 275 mg PMT einer Dosierung von 4 mg/kg Körpergewicht.

Zum Zeitpunkt der Tubenexstirpation erfolgte eine erneute Blutentnahme. Alle gewonnenen Blutproben wurden sofort zentrifugiert und bei -20°C eingefroren. Bei fünf Operationen wurde die Blutversorgung der rechten und der linken Tube zu unterschiedlichen Zeitpunkten unterbrochen. So konnten bei diesen Patientinnen auch jeweils zwei verschiedene Zeitwerte gewonnen werden. Nach der Exstirpation wurde die Tube von Mesosalpinx und Fettgewebe freipräpariert und Blutauflagerungen abgetupft. Ein bis drei 500 mg schwere Gewebestücke wurden anschließend abgewogen und ebenfalls tiefgefroren.

Nach höchstens drei Tagen erfolgte die Weiterverarbeitung. Dazu wurden zunächst die Gewebestücke im Mikrodismembrator der Firma Braun-Melsungen über 60 - 75 Sek. zerkleinert und nach Zugabe von 1 000 mcl Phosphatpuffer (ph 4,5) bei 2 000 U/min. zentrifugiert. Jeweils 200 mcl des Überstandes konnten anschließend pro Zylinder im Agar-Diffusionstest (biologische Methode) eingesetzt werden, ebenso wie jeweils 200 mcl pro Zylinder der beiden Serumwerte.

Auf Empfehlung der Firma Höchst diente als Testkeim Bacillus subtilis ATCC 6633, dessen Beständigkeit größer und die Aufbewahrung leichter als die des häufig verwendeten Bacillus cereus ist, und dessen Empfindlichkeit gegen PMT sich in Vorversuchen als ausreichend erwiesen hatte.

Die verwendeten Agarplatten wurden wie folgt hergestellt: Zunächst wurde Agar Trockensubstanz (Medium 2) in Aqua dest. gelöst und autoklaviert. Anschließend wurden die Petrischalen mit je 14 ml dieses Basalagars beschickt und dann zum Erstarren mindestens 90 Minuten auf einer austachierten waagerechten Unterlage stehengelassen. Nachdem die Seedagarsubstanz (Medium 1) ebenfalls gelöst und autoklaviert worden war, wurden pro Reagenzglas, gefüllt mit 20 ml Seedagar, 0,5 ml einer Keimsuspension (Bacillus subtilis) zugegeben, die vorher auf 20 % Lichtdurchlässigkeit eingestellt wurde. Die Reagenzgläser wurden während der gesamten Zeit im Wasserbad auf 45°C gehalten. 4 ml dieses Seedagar-Subtilis-Gemisches wurden nun auf den inzwischen erkalteten Basalagar pipettiert und ebenfalls 90 Minuten stehengelassen. Danach konnten die Zylinder aufgesetzt werden. Zur Vermeidung eines Wachstums unerwünschter Keime wurden die Agarplatten zu jedem Versuchstag neu hergestellt. Nach erfolgter Beimpfung wurden die Platten zunächst drei Stunden lang bei 4°C zur Prädiffusion aufbewahrt und anschließend 16 Stunden lang bei 37°C bebrütet.

Zur Konzentrationsbestimmung des PMT in den Gewebsproben dienten die Hemmhöfe einer jedesmal neu angesetzten Verdünnungsreihe einer PMT-Phosphatpuffer-Lösung als Vergleichsgröße. Bei den Serumwerten wurde zunächst eine Standardkurve angefertigt. Hierzu wurden antibiotikafreie Seren verschiedener Probanden gemischt. Eine Verdünnungsreihe, ausgehend von 1 mg PMT in 1 ml Serum, durchlief anschließend den Agardiffusionstest. Bei den einzelnen Proben wurde dann ein Teil des Serum-Leerwertes mit zwei exakt abgewogenen Mengen PMT versetzt und diese individuellen Eichwerte mit der Eichkurve für Mischserum verglichen. An der so gewonnenen individuellen Eichkurve konnten dann die jeweiligen Zeitwerte des Antibiotikumspiegels für das entsprechende Serum abgelesen werden.

IV. ERGEBNISSE

Die Resultate der einzelnen Messungen werden in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Pat.	Zeit	Tube	Serum
1	5'	12,0	34,0
2	5'	13,2	29,0
3	5'	21,6	44,0
4	5'	20,3	53,0
5	5'	11,0	50,0
6	6'	26,4	47,0
7	7'	19,2	46,0
8	10'	18,6	21,0
9	10'	12,3	18,5
10	12'	15,6	27,5
11	14'	14,7	26,0
12	15'	12,9	16,5
13	15'	14,0	23,0
14	15'	15,0	12,5
15	16'	9,4	16,0
16	27'	12,6	13,0
17	28'	13,8	15,0
18	45'	6,8	7,0
19	45'	15,0	9,6
20	60'	8,6	7,4
21	60'	8,0	
22	60'		7,3
23	75'	6,3	4,9
24	75'		5,5
25	90'	5,64	
26	6h	2,46	3,3
27	6h30'		3,1
28	12h	1,24	2,8
29	13h30'	1,5	1,9
30	24h		
31	24h	1,1	

Tab. 1: Die Antibiotikumkonzentration in Serum und Tubengewebe wird hierbei jeweils in mcg/ml angegeben.

Einige Proben konnten wegen technischer Schwierigkeiten nicht verwendet werden, was unvollständige bzw. fehlende Wertpaare erklärt. Bei den 24^{h}-Werten wurde bei den meisten Proben keine Aktivität mehr nachgewiesen.

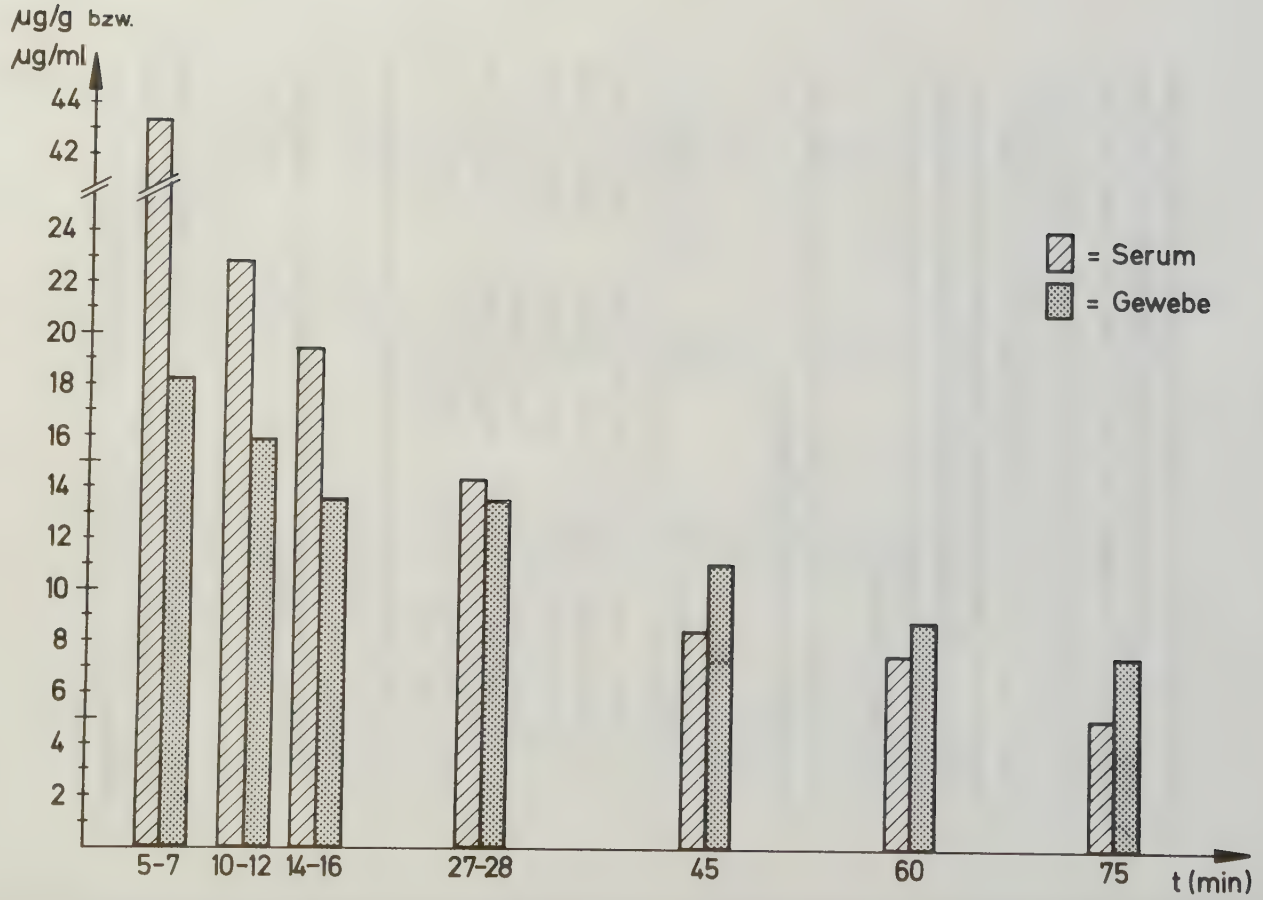
Wegen der Dichte der Ergebnisse konnten die ersten 75 Minuten nach Applikation in Zeitabschnitte unterteilt werden und für jede so erhaltene Wertegruppe die jeweilige mittlere Konzentration und die Standardabweichung errechnet werden.

Das Ergebnis ist in Tabelle 2 und der dazugehörigen Abbildung auf Seite 6 dargestellt.

Zeitabschnitt	n	Tube	Serum
5 - 7 min.	7	17,7 ± 5,74	43,3 ± 8,67
10 - 12 min.	3	15,5 ± 3,15	22,3 ± 4,65
14 - 16 min.	5	13,2 ± 2,27	18,8 ± 5,53
27 - 28 min.	2	13,2 ± 0,85	14,0 ± 1,41
45 min.	2	10,9 ± 5,80	8,3 ± 1,84
60 min.	1	8,6	7,4
75 min.	1	6,3	4,9

Tab. 2: Mittelwerte der Zeitabschnitte ± Standardabweichung

Vergleicht man die Tubenkonzentration mit dem dazugehörigen Serumspiegel, so ergibt sich ein signifikanter Zusammenhang.


µg/g bzw.
µg/ml
44
42
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
= Serum
= Gewebe
5-7
10-12
14-16
27-28
45
60
75
t (min)

Nach der Formel $r_S = 1 - \frac{6\ D^2}{n(n^2 - 1)}$

errechnet sich die Rangkorrelation nach Spearman:

$r_S = 0{,}5763$ p/0,005

Zwischen der Zeit und dem Logarithmus der Tubenkonzentration besteht eine hochsignifikante negative Korrelation:

$r = -0{,}7006$ p/0,001

Die Halbwertszeit beträgt 54,1 Minuten.

Ebenso besteht zwischen der Zeit und dem Logarithmus der Serumkonzentration eine hochsignifikante negative Korrelation:

$r = -0{,}8859$ p/0,001

Die Halbwertszeit beträgt 22,4 Minuten.

V. DISKUSSION

Wie schon in früheren Arbeiten gezeigt wurde, erreicht PMT bereits nach 5 Minuten sehr hohe Serumspiegel. Gleichzeitig beginnt aber auch die Diffusion in den extravasalen Raum und auch bereits die Elimination. Diese beiden Vorgänge erklären die errechnete kurze Halbwertszeit für die ersten 75 Minuten.

In den Gewebsproben konnten naturgemäß zunächst weniger hohe Spiegel gemessen werden, dafür lag die Halbwertszeit im errechneten Zeitraum deutlich über dem entsprechenden Wert für die Serumkonzentration. Nach etwa 40 Minuten scheint sich ein Gleichgewicht zwischen Serum und Gewebe einzustellen. Teilweise lagen die Tubenkonzentrationen der nachfolgenden Werte sogar über denen der Serumkonzentrationen. Eine deutliche Speicherung und damit Überwiegen der Gewebskonzentrationen konnte aber nicht beobachtet werden. Das im Vergleich zu anderen Antibiotika hohe Diffusionsvermögen von PMT (17) bewirkt somit einerseits ein relativ rasches Ansteigen des Gewebsspiegels, andererseits bei Absinken der Serumkonzentration eine entsprechende Rückdiffusion in den intravasalen Raum.

Zum Problem der Bakterizidie ist folgendes zu bemerken: sowohl Ritzerfeld als auch Knothe und Mahler wiesen in ihren Arbeiten über PMT eine teilweise bakterizide Wirkung für Spiegel über 10 mcg/ml, eine deutliche bakterizide Wirkung für Spiegel über 25 mcg/ml nach (vgl. Otte). Für die vorliegende Untersuchung ergibt sich daraus eine deutliche bakterizide Wirkung im Serum innerhalb der ersten Minuten. Im Gewebe hingegen werden nur

Spiegel erreicht, die in den Bereich der teilweisen Bakterizidie fallen. Für beide hält diese teilweise bakterizide Wirkung etwa 45 Minuten an.

Eine bakteriostatische Wirkung wird PMT in der oben zitierten Arbeit von Otte bei einer Konzentration von 1,3 mcg/ml zugeschrieben. Naumann unterteilt die tetrazyclinempfindlichen Keime in die Resistenzgruppen hochsensibel (MHK unter 0,5 mcg/ml), sensibel (MHK 0,5 - 1,5 mcg/ml), mäßig sensibel (MHK 1,5 - 3,0 mcg/ml) und resistent (MHK über 3,0 mcg/ml). Die meisten Stämme der für Adnexitiden relevanten Erreger gehören dabei den Gruppen hochsensibel und sensibel an. Genauere Untersuchungen liegen von H. Werner et al. über die Erreger der Gruppe Bacteroides vor. Danach werden bei einer PMT-Konzentration von 1,56 mcg/ml 61,25 % aller Stämme in ihrem Wachstum gehemmt. Einige Stämme, besonders die in jüngerer Zeit isolierten, wiesen jedoch eine höhere MHK auf, und so erreicht man eine Hemmung von 96,25 % aller Stämme erst bei einer Konzentration von 12,5 mcg/ml.

Unter dem Vorbehalt der im Einzelfall variierenden Empfindlichkeit kann man davon ausgehen, daß bei einer PMT-Konzentration von 1,5 mcg/ml eine ausreichende Bakteriostase erzielt wird. Für die vorliegende Untersuchung ergibt sich daraus eine gute bakteriostatische Wirkung sowohl im Tubengewebe als auch im Serum für die Zeit von ca. 12 Stunden nach einmaliger Injektion von 275 mg PMT. Auch über diesen Zeitraum hinaus wird sicher noch ein Großteil der sensiblen Erreger gehemmt, doch ist eine Bakteriostase dann in weit stärkerem Ausmaß vom jeweiligen Keimspektrum abhängig. Da aber gerade bei Adnexitiden eine Empfindlichkeitstestung im allgemeinen nicht möglich ist, empfiehlt sich zu Beginn der Erkrankung

eine zweimalige Gabe von 275 mg PMT in 12-stündigem Abstand. Bei dieser Dosierung erreicht man dann konstant bakteriostatische Spiegel und nützt zusätzlich die bakterizide Wirkung von PMT bei höheren Konzentrationen besser aus. Gibt man diese Dosis nur in den ersten Tagen der Behandlung, so steigt die Nebenwirkungsrate nicht wesentlich an, da PMT bei normaler Nierenfunktion eine sehr geringe Kumulationsneigung zeigt (6, 13).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Sowohl im Serum als auch im Tubengewebe wurden nach einmaliger Injektion von 275 mg PMT (Reverin^{R}) rasch hohe Wirkspiegel erreicht. Für das Keimspektrum der Adnexitiden bedeutete dies eine teilweise bakterizide Wirkung für etwa 45 Minuten und eine bakteriostatische Wirkung für mehr als 12 Stunden. Bei gleichzeitiger guter Verträglichkeit erwies sich PMT als gut geeignet zur Therapie der akuten Adnexitis.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. V. Lehmann, ehemals Oberarzt der Universitäts-Frauenklinik Würzburg, jetzt Chefarzt der gynäkologisch-geburtshilflichen Abteilung des Krankenhauses Hamburg-Harburg für die Überlassung des Themas.

Herrn Professor Dr. K.-H. Wulf danke ich herzlich für die Übernahme des Korreferates.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

(1) Abenhardt, W.:
Med. Mschr. 15, 315 - 319 (1961)

(2) Adam, D.: Handbook of Antimicrobial Therapy,
Dt. Ausgabe, Hans Marseille Verlag,
München (1972)

(3) Bucher, R., T. Wegmann:
Schweiz. Med. Wschr. 95, 47, 1621 - 1628
(1965)

(4) Dimmling, Th., W.H. Wagner:
Arzneimittel-Forschung 15, 1288 - 1292
(1965)

(5) Dimmling, Th.:
Med. Klin. 67, 1632 - 1637 (1972)

(6) Dimmling, Th., O. Vanderbecke:
Med. Klin. 70, 279 - 285 (1975)

(7) Grove, D.C., W.A. Randall:
Antibiot. Monographs No. 2,
Med. Encyclopedia Inc. (1955)

(8) Ludwig, F.H., H. Zieger, K.H. Jörg:
Therapiewoche 26, 5388 (1976)

(9) Moorthi, K., W.D. Becker, T. Geiß, D. Kentner:
Therapiewoche 24, 3147 (1974)

(10) Naumann, P.:
Antibiotika et Chemotherapia,
Fortschr., Vol. 10, 1 - 93 (1962)

(11) Otte, H.J.:
Zbl. Bakt. I Abt. Ref. 180, No. 4,
569 - 581 (1960)

(12) Schalkhäuser, K., D. Bürger, K. Heß, W. Schneider:
Med. Klin. 69, 582 (1974)

(13) Stötter, G.:
Münch. Med. Wschr. 17 (1972)

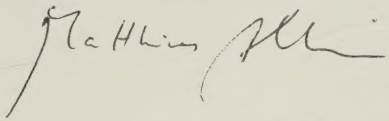
(14) Wacha, H., W. Hartel:
Fortschr. Med. 24, 1094 (1975)

(15) Walter, A.M., L. Heilmeyer:
Antibiotika-Fibel, 4. Auflage,
G. Thieme, Stuttgart (1975)

(16) Werner, H., B. Spengruber, H. Kunstek-Sanes:
Münch. Med. Wschr. 15, 633 - 636 (1975)

(17) Wysocki, S., V. Djandji:
Therapiewoche 27, 5999 (1977)

L e b e n s l a u f

6.8.1952	Geburt in Nürnberg als zweiter Sohn des Montageinspektors Hellmut Albani und seiner Ehefrau Irmgard, geb. Franke
Sept. 1958	Einschulung in Nürnberg
April 1959	Umzug und Umschulung nach Erlangen
Sept. 1963	Übertritt in das mathemat.-naturwissenschaftliche Ohm-Gymnasium in Erlangen
Juni 1972	Abitur an der gleichen Schule
Juli 1972 - April 1973	Grundwehrdienst bei der Bundeswehr
Mai 1973	Aufnahme des Medizinstudiums an der Universität Würzburg
März 1975	Physikum
März 1976	1. Teil des Staatsexamens
April 1978	2. Teil des Staatsexamens Anschließend 4 Monate im Wahlfach Psychiatrie an der Universitäts-Nervenklinik Würzburg und je 4 Monate Innere Medizin und Chirurgie am Landeskrankenhaus Coburg
Mai 1979	3. Teil des Staatsexamens
Juli 1979	Eheschließung mit Frau Marion Spath, ebenfalls Ärztin
Okt. 1979	Anstellung als Assistenzarzt in der II. Med. Klinik der Klinik am Eichert, Göppingen

Würzburg, den 25. April 1980